

**Key words:** Three-stranded structure, Energetics analysis, Stability, Molecular building, Energy optimization

\* This project was supported by the Great Project of the Chinese Academy of Sciences.

① Institute of Chemistry, Academia Sinica.

② Shanghai Institute of Biochemistry, Academia Sinica.

③ The Computing Center of Yunnan Province.

## 体外 $\lambda$ -DNA 形成新结构的证据\*

### Evidence of $\lambda$ -DNA Forming New Structure in Vitro

**关键词:**  $\lambda$ -DNA, 熔解温度, DNase I 酶解

**Key words:**  $\lambda$ -DNA, Melting temperature, DNase I enzymolysis

1990 年白春礼等人首次用扫描隧道显微镜 (STM) 直接观察到  $\lambda$ -DNA / Hind III 经热变性后在体外形成一种三链辫状结构。这一结果不同于目前提出的三螺旋模型, 即第 3 条链缠绕于双链 DNA 的大沟之中。据文献报道, 用同型嘌呤和同型嘧啶或以单链 DNA 和双链 DNA 反应所得到的三链物比双链 DNA 有较低的熔解温度 ( $T_m$ ), 在解旋过程中 280 nm 光吸收值明显提高, 对 DNase I 酶解有抗性等特征。

**材料和方法** 我们采用四重蒸馏水作为溶剂, 按白春礼等 (1990) 的方法在体外观察  $\lambda$ -DNA 新结构的生成。 $\lambda$ -DNA Hind III 为华美生物工程公司生产。最大吸收为 257.8 nm, 260/235, 260/280 的 OD 比值分别为 1.89 和 1.85, 蛋白质含量小于 1%。将上述 DNA ( $0.5 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) 在沸水中加热 15 min 后, 迅速地插入冰水中。测定前用四重蒸馏水 (pH5) 稀释, 最终浓度为  $20 \mu\text{g}/\text{ml}$ , 置于密封比色杯内在 Hitachi U-3200 紫外分光光度计测定。所示温度指样品池内经校正后的温度值。

**结果和分析** 经上述制备的样品具有如下特征:

1. 如图所示, 温度吸收曲线呈现两个明显的解旋过程, 分别为  $T_{m1} = 39.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$  (A 组分) 和  $T_{m2} = 73.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$  (B 组分); 而样品经稀释 ( $20 \mu\text{g}/\text{ml}$ ) 后按白春礼等 (1990) 方法同样处理后没有明显观察到上述现象。

B 组分的形成以 pH5.0 为最佳, pH7.0 时没有观察到; 在同样条件下, 未经热变性处理的样品在 pH7.0、6.0、5.0 和 4.0 没有观察到上述现象,  $T_m$  值 ( $43 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ) 无明显变化。在加热的过程中还观察到随温度升高, 260/280 的 OD 比值下降。相应于 B 组分的  $\Delta A_{280}/\Delta A_{260}$  的比值显著大于双链 DNA。

(下转第 31 页)

\* 中国科学院“八五”重大科研项目内容。

experiment results reported.

This studies will benefit the further investigation in biological function of multiple hydrogen bond interactions from the theoretical point of view.

**Key words:** Triplet, Hydrogen bond pairs interaction, Hoogsteen base pairs, Interaction energy between base pairs

(上接第 25 页)

2. 用牛脾 DNase I 处理变性后的样品, 经 Sephadex G-200 分离后, 温度吸收曲线仅一个跃迁,  $T_m$  为  $73.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ , 凝胶电泳图谱经溴乙锭显色后在紫外光下观察到一个荧光带, 片段大小相当于 4000—9000 bp 与双链 DNA 相比 (相同磷含量), 紫外吸收值降低, EB-DNA 荧光量子产率下降。

上述结果表明, 热变性制备的天然单链  $\lambda$ -DNA 在无  $\text{Mg}^{++}$  存在下, pH5.0 的蒸馏水的反应系统中形成一种新的有序结构, 它具有较高的  $T_m$  值, 在解旋过程中 280 nm 光吸收值明显增加, 对 DNase I 具有抗性, 这些都与对照的双链 DNA 明显不同, 与三螺旋产物特征也有较大的差别。这种新的有序结构具有较高的热稳定性, 我们推测, 有可能相应地在 STM 中所观察到的三链辫状结构。

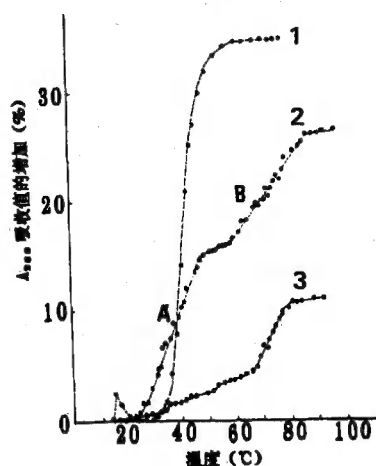


图 1  $\lambda$ -DNA 的溶解温度曲线

Fig. 1  $\lambda$ -DNA melting temperature curve

1:  $\lambda$ DNA Hind III

2: 变性  $\lambda$ DNA Hind III

3: 经牛脾DNase I 处理的变性  $\lambda$ -DNA Hind III

曹恩华<sup>①</sup> 白春礼<sup>②</sup> 何裕建<sup>①</sup> 方 晔<sup>②</sup> 张平城<sup>②</sup>  
Cao Enhua<sup>①</sup> Bai Chunli<sup>②</sup> He Yujian<sup>①</sup> Fang Ye<sup>②</sup> Zhang Pingcheng<sup>②</sup>

(<sup>①</sup> 中国科学院生物物理研究所 北京 100101)

(<sup>①</sup> Institute of Biophysics, Academia Sinica, Beijing 100101)

(<sup>②</sup> 中国科学院化学研究所 北京 100080)

(<sup>②</sup> Institute of Chemistry, Academia Sinica, Beijing 100080)